Iranian Food Science and Technology
Research Journal
Homepage: https://ifstrj.um.ac.ir

Research Article
Vol. 20, No. 4, Oct.-Nov. 2024, p. 381-393

Optimization of Pigment Extraction from Red Beet

M. Lavarestagh[1], N. Zamindar[2*], Y. Esmaeili[1]

1 and 2- Graduated Master and Associate Professor, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: n.zamindar@khuisf.ac.ir)

Received:	21.02.2023	**How to cite this article:** Lavarestagh, M., Zamindar, N., & Esmaeili, Y. (2024). Optimization of pigment extraction from red beet. *Iranian Food Science and Technology Research Journal, 20*(4), 381-393. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.81079.1235
Revised:	26.08.2023	
Accepted:	19.11.2023	
Available Online:	20.11.2023	

Introduction

The first quality attribute about food evaluated by consumer is visual characteristics. The apparent attributes of a product include its shape, color, packaging, size, and uniformity. The consumer considers the product's appearance in the first step before any other information about other characteristics, such as taste or smell, especially in the first purchase. Color is the most crucial indicator of the quality of food that affects consumer acceptance. To replace the color lost during the process, increasing the existing color and minimizing variation during processing; natural colors, synthetic and inorganic colorants are added to food. Red beet is one of the most important natural sources of color; the essential pigment in this plant is betalain, composed of two subunits, betacyanin, and betaxantine. Considering the growing demand to develop more effective methods for extracting active compounds present in vegetable materials, including naturally occurring betalain and other nutritious compounds, this research was conducted to optimize the extraction conditions of this pigment from red beet.

Materials and Methods

Preparation of red beet

The red beets were washed, peeled, and grated to prepare the sample. Then, red beets were dried in an oven at 30 °C for 48 hours and milled. For extraction, 10 grams of red beet powder was mixed with 200 ml of solvent (water-ethanol in a ratio of 1:1) and subjected to ultrasonication at 37 kHz. Experiments in 27 runs were performed based on a historical data design, randomized subtype and quadratic model. After the implementation with the edition of Design Expert 7 software, the range of variables pH (3-5), temperature (15-25 °C), and time (10-20 min) were applied for extraction. The pulp was dried using a Wattman filter paper in an oven at 35 °C and used for subsequent tests.

Yield measurements

The efficiency of the extraction process was calculated by dividing the weight of the extract obtained by the weight of the beetroot.

Measurement of pigments

The betacyanin and betaxanthine pigments show maximum absorption in 522-559 nm and 474-480 nm, respectively. To measure betacyanin and betaxanthine in extracts, a certain amount of powder was dissolved in distilled water, and its absorbance was measured at 530 and 480 nm. The amount of pigments obtained from different extraction conditions was compared.

Results and Discussion

https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.81079.1235

In this study, the overall results showed that an increase in the extraction pH and time increased the extraction of betacyanine and betaxanthine. It would be better to extract betacyanine at temperatures below 25 °C since this pigment is sensitive to high temperatures. The maximum yield was observed when pH value, temperature, and time were 5, 21 °C, and 20 min, respectively. Comparison of experimental and predicted values of the proposed responses at the proposed optimal points by t-test showed no significant difference ($p<0.05$). A quadratic model was suggested for the responses, and the lack of fit was not significant ($p<0.05$). The extraction of betaline from red beet using the ultrasonic assisted method causes a reduction in time, temperature, energy, and solvent consumption.

Conclusion

The maximum yield was observed when pH value, temperature, and time were 5, 21 °C, and 20 min, respectively. Comparison of experimental and predicted values of the optimal points showed no significant difference by t-test ($p<0.05$). According to the results obtained from this research, ultrasonic assisted extraction can be considered an efficient and fast method. Extraction of betalain from red beetroot with ultrasonic assisted method is more efficient. It can replace the regular practice of extraction in the industry due to the reduction of time, temperature, energy, and solvent consumption, thus reducing cost and increasing profit.

Keywords: Betacyanine, Betaxanthin, Red beet, Response surface method

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
https://ifstrj.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۲۰، شماره ۴، مهر-آبان ۱۴۰۳، ص. ۳۹۳-۳۸۱

بهینه‌سازی شرایط استخراج رنگ از چغندر قرمز

مهشاد لوارستاق[۱]- نفیسه زمین‌دار[۲]*- یاسمن اسمعیلی[۱]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۰۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۲۸

چکیده

به تازگی استفاده از رنگدانه‌های طبیعی به‌عنوان افزودنی غذایی، رنگ‌های خوراکی و دارو بسیار مورد توجه قرار گرفته است. چغندر قرمز سرشار از رنگدانه‌های بتالایین است. در این پژوهش به بررسی تأثیر متغیرهای مستقل دما، زمان و pH بر استخراج رنگدانه‌های بتالایین از چغندر قرمز پرداخته شده است. به‌منظور آماده سازی نمونه چغندر شست و شو، پوست‌گیری و رنده شد. سپس چغندرهای قرمز به‌مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد خشک و سپس آسیاب و آماده عصاره‌گیری شدند. عصاره‌گیری با استفاده از آب:اتانول با نسبت ۱:۱ به‌عنوان حلال انجام شد. تأثیر پارامترهای فرآیند استخراج شامل pH (۳- ۵)، دما (۱۵-۲۵) درجه سانتی‌گراد و زمان (۱۰-۲۰) دقیقه بر بتاسیانین، بتاگزانتین و بازده کل مورد ارزیابی قرار گرفت. امواج فراصوت با فرکانس ۳۷kHz برای تسهیل استخراج به کار برده شد. جهت انتخاب شرایط از الگوریتم بهینه‌سازی روش سطح پاسخ استفاده شد. به‌طور کلی، نتایج نشان داد که افزایش pH و زمان استخراج باعث افزایش در مقادیر بازده، مواد جامد محلول کل، بتاسیانین، بتاگزانتین شد. در این پژوهش در pH برابر ۵، دمای ۲۱ درجه سانتی‌گراد و زمان ۲۰ دقیقه حداکثر بازدهی مشاهده شد. تحت شرایط بهینه استخراج پیشنهاد شده توسط روش بهینه‌سازی، پارامترهای اندازه‌گیری شده با مقادیر پیش‌بینی شده تفاوت معنی‌داری نداشت ($p<0.05$).

واژه‌های کلیدی: بتاسیانین، بتاگزانتین، چغندر قرمز، روش سطح پاسخ

مقدمه

اولین خصوصیت کیفی که توسط یک مصرف‌کننده ماده غذایی دریافت می‌شود و مورد توجه قرار می‌گیرد خصوصیات ظاهری محصول می‌باشد. خصوصیات ظاهری یک محصول شامل خصوصیاتی مانند رنگ، شکل، نوع بسته‌بندی، اندازه، یکنواختی می‌باشند. در حقیقت مصرف‌کننده قبل از آن که هیچ گونه اطلاعی از سایر خصوصیات ماده غذایی از قبیل طعم یا بوی آن داشته باشد، در درجه اول ظاهر محصول را مورد توجه قرار می‌دهد. بنابراین خصوصیات ظاهری عامل مهم و تعیین کننده‌ای، مخصوصا در اولین خرید از یک محصول یا عدم خرید آن هستند. در این میان رنگ مهمترین شاخص کیفی مواد غذایی است که پذیرش مصرف‌کننده را تحت تأثیر قرار می‌دهد. به‌منظور جایگزین کردن رنگ از دست رفته در طول فرآیند، افزایش رنگ موجود، به حداقل رساندن تغییرات در حین فرآوری و رنگ کردن غذای بدون رنگ؛ رنگ‌های طبیعی، شبه طبیعی، سنتزی و غیر آلی به مواد غذایی افزوده می‌شوند (Aberoumand, 2011).

اخیرا محدودیت بسیاری از جانب سازمان بین‌المللی و انستیتوهای تحقیقاتی در مورد استفاده از مواد رنگ‌زای مصنوعی خوراکی به‌ویژه رنگ قرمز مصنوعی بیان شده است (Downham *et al*., 2000). به همین دلیل تحقیقات وسیعی برای تهیه مواد رنگ‌زای قرمز طبیعی به عنوان افزودنی‌های مجاز آغاز گردیده است و علاقه به مصرف رنگ های طبیعی را افزایش داده است زیرا رنگدانه‌های طبیعی معمولا سالم‌تر یا بی‌ضررتر از رنگ‌های مصنوعی هستند (Cardoso-Ugarte *et al*., 2014). استفاده از رنگ‌های طبیعی علی‌رغم ثبات و قدرت رنگی کم‌تر نسبت به رنگ‌های مصنوعی؛ به‌دلیل ایمن‌تر بودن و داشتن

۱ و ۲- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: n.zamindar@khuisf.ac.ir)

https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.81079.1235

ارزش غذایی و مواد زیست فعال از جمله ویتامین‌های مختلف و همچنین داشتن خاصیت آنتی‌بیوتیکی و عدم اثرات مسمومیت‌زایی آن‌ها ترجیح داده می‌شوند. رنگ‌های طبیعی آنتی‌اکسیدان‌های تغذیه ای هستند و حضور آن‌ها در رژیم غذایی باعث کاهش خطر بیماری‌های قلبی عروقی، سرطان و بیماری‌های مرتبط با پیری می‌شود (Zohuri *et al*., 2016). رنگ‌های طبیعی همه‌جا در طبیعت به‌خصوص در میوه-ها و سبزیجات موجود هستند (Esmaeili *et al*., 2021). با این حال انواع رنگ‌های طبیعی که به‌صورت تجاری در دسترس هستند نسبتا کم هستند (Cardoso-Ugarte *et al*., 2014). یکی از مهم‌ترین منابع طبیعی رنگ، چغندر قرمز می‌باشد که می‌توان از آن مواد رنگ زای قرمز طبیعی را به‌منظور استفاده در فرآورده‌های غذایی تهیه کرد. مهم‌ترین رنگدانه موجود در این گیاه بتالایین است. بتالائین‌ها رنگدانه-های نیتروژن دار محلول در آب هستند که در غلظت‌های بالا در چغندر قرمز یافت می‌شوند. رنگدانه بتالائین از دو زیر واحد بتاسیانین [1] (رنگدانه قرمز) و بتاگزانتین [2] (رنگدانه زرد) تشکیل شده است (Delgado-Vargas *et al*., 2000). بتالایین رنگ قرمز مطلوبی را به غذا اضافه می‌کند و کاربردهای زیادی در صنعت غذا مانند افزودنی در ژلاتین‌ها، دسرها، قنادی، محصولات نانوایی و غیره دارد. بتالایین به‌دلیل فعالیت-های ضد ویروسی، ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی توجه زیادی را به خود جلب کرده است (Ranjbar Nedamani, 2022). در مورد ایجاد رنگ زرد متمایل به نارنجی نیز بتاگزانتین می‌تواند جایگزین کاروتنوئیدها شود (Changizi-ashtiyani *et al*., 2018). بتاسیانین‌ها نیز یک گروه از ترکیبات هستند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مهار رادیکال آزاد دارند (Escribano *et al*., 1998). با توجه به ارزان قیمت بودن کشت چغندر قرمز در ایران، استفاده از آن برای استخراج رنگدانه‌های طبیعی به‌صرفه است. مهم‌ترین کاربرد ماده رنگ‌زای تهیه شده در محصولات سرد مانند بستنی، ماست، شربت یخی، رنگ کردن مسقطی، پوشش شیرینی‌ها و کرم‌های وسط شیرینی می‌باشد، به‌دلیل قدرت رنگی زیاد این ماده، میزان افزودن آن در محصولات غذایی بسیار کم است. حد مجاز برای مصرف روزانه بتالایین از ۱۰ تا ۵۰ میلی‌گرم به ازا یک کیلوگرم غذا بیان شده است (Pavlov *et al*., 2005).

استخراج رنگدانه‌های طبیعی از جمله بتالایین‌ها معمولا به‌وسیله استخراج جامد–مایع انجام می‌شود در این روش رنگدانه‌ها با آب و همچنین از طریق استفاده از محلول‌های متانول یا اتانول استخراج می شوند. با این حال معایب مربوط به این روش مانند زمان استخراج طولانی، آلودگی حلال و تولید نسبی پایین، محققان را به استفاده از تکنیک‌های فرآیند جدید که باعث بهبود کارآمدی فرآیند از طریق افزایش جرم انتقالی، پایداری رنگ طبیعی و سازگاری با محیط‌زیست می‌شود، تشویق می‌کند. استخراج با استفاده از فراصوت یکی از این روش‌هاست (Cardoso-Ugarte *et al*., 2014).

مکانیسم اصلی استخراج با امواج فراصوت به پدیده کاویتاسیون مربوط می‌شود. با توجه به حساسیت رنگدانه‌ها نسبت به دماهای بالا، از مزایای روش فراصوت این است که استخراج در دماهای پایین را امکان‌پذیر می‌سازد (Zohuri *et al*., 2016). از طرف دیگر، بالابردن کارایی و بازده سیستم‌ها در فرآیند استخراج بدون افزایش هزینه‌ها بسیار حائز اهمیت است. روش اجرایی که بدین منظور استفاده می گردد، بهینه‌سازی نامیده می‌شود و این عمل، یکی از مهمترین مراحل در طراحی و تحلیل سیستم‌ها است. روش سطح پاسخ مجموعه‌ای از تکنیک‌های ریاضی و آماری است که جهت توسعه، پیشبرد و بهینه-کردن فرآیندهایی به کار می‌رود که در آنها سطح مورد نظر تحت تأثیر متغیرهای بسیاری قرار داشته و هدف، بهینه‌کردن پاسخ مزبوراست. روش سطح پاسخ کاربرد قابل توجهی در طرح‌ریزی، توسعه، فرموله کردن محصولات جدید غذایی و همچنین ارتقای طراحی محصولات موجود دارد (Bas *et al*., 2007).

لاکوی ویلکا و همکاران (Laqui-Vilca *et al*., 2018) بتالایین را از پوسته کینوآ رنگی (تیره تاج‌خروسیان) از طریق استخراج آبی با کمک فراصوت استخراج و به‌وسیله روش سطح پاسخ بهینه کردند سپس پایداری حرارتی بتالایین‌ها را بررسی کردند. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که استخراج بتالایین از پوسته کینوآی رنگی می‌تواند در زمان فرآیند بسیار کوتاه ۹/۲ و۴۰ ثانیه به‌ترتیب برای نمونه‌های حاوی بتاسیانین و بتاگزانتین انجام شود. عصاره‌های تهیه شده به‌وسیله فراصوت نیز به همان میزان پایدار یا پایداتر از نمونه‌های استخراج شده از ریشه چغندر هستند و حاوی مقادیر کمی ساپونین می‌باشند (Laqui-Vilca *et al*., 2018).

با توجه به تقاضای رو به رشد برای توسعه روش‌های کارآمدتر و مؤثرتر برای استخراج ترکیبات فعال موجود در مواد گیاهی همچنین ارزان قیمت بودن کشت چغندر قرمز در ایران و اینکه عصاره چغندر قرمز غنی از رنگدانه طبیعی بتالایین و سایر ترکیبات مغذی است، استخراج بتالائین از چغندر قرمز با استفاده از روش فراصوت، به حداکثر رساندن بازده و بهینه‌سازی شرایط استخراج این رنگدانه ارزشمند به روش سطح پاسخ بسیار مهم و هدف از این پژوهش می‌باشد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی چغندر قرمز

1- Betacyanin

2- Betaxanthin

به‌منظور آماده‌سازی نمونه؛ ابتدا شست و شو، جداسازی آلودگی‌ها، پوست‌گیری و رنده کردن چغندر قرمز انجام شد سپس چغندرهای قرمز به‌مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد خشک و سپس آسیاب و آماده عصاره‌گیری شدند. جهت عصاره‌گیری ۱۰ گرم پودر چغندر قرمز به همراه ۲۰۰ میلی‌لیتر از حلال آب:اتانول با نسبت ۱:۱ مخلوط و سپس به‌مدت ۲۰ دقیقه بدون اعمال حرارت در معرض فراصوت (مدل Parsonic30s، ساخت کشور ایران) با فرکانس ۳۷ کیلوهرتز قرار داده شد. تیمارها در ۲۷ آزمایش به روش سطح محدوده متغیرهای pH، دما و زمان به صورت جدول ۱ برای استخراج مورد بررسی قرار گرفت. تفاله چغندر بدست آمده با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ جدا شد و در آون با دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد خشک شد و برای آزمون‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفت (De Sotillo *et al.*, 1994).

اندازه‌گیری بازده

بازده فرآیند استخراج از طریق تقسیم وزن عصاره بدست آمده بر وزن ریشه چغندر استفاده شده محاسبه گردید (Lee *et al.*, 2006).

$$\text{بازده} = \frac{\text{وزن عصاره}}{\text{وزن ریشه چغندر}} \times 100 \qquad (۱)$$

اندازه‌گیری میزان رنگدانه‌ها

رنگدانه بتاسیانین در حدود ۵۳۴–۵۲۲ نانومتر و رنگدانه بتاگزانتین در محدوده ۴۸۰–۴۷۴ نانومتر دارای حداکثر جذب می‌باشند. برای اندازه گیری میزان بتاسیانین و بتاگزانتین در عصاره‌ها مقدار مشخصی از پودر حاصل در آب دوبار تقطیر حل شد و جذب آن در طول موج‌های ۵۳۰ و ۴۸۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان رنگدانه‌های بدست آمده از شرایط مختلف با هم مقایسه شد. در این معادله برای اندازه‌گیری بتاسیانین از طول موج ۵۳۰ نانومتر و ضریب جذب مولکولی و برای بتاگزانتین از طول موج ۴۸۰ نانومتر و ضریب جذب مولکولی استفاده شده است (Hendry *et al.*, 1996).

$$C = \frac{A}{ab} \qquad (۲)$$

C: (µg/g) میزان رنگدانه

A: جذب نمونه

a: ضریب جذب مولکولی

b = 1cm

جامعه آماری و روش تجزیه و تحلیل اطلاعات

در این مطالعه روش سطح پاسخ در قالب طرح هیستوریکال دیتا از نوع تصادفی برای پیش‌بینی تأثیر متغیرهای فرآیند بر استخراج رنگدانه‌های بتالایین از چغندر قرمز به روش فراصوت به کار برده شد. تیمارها در ۲۷ آزمایش بر اساس طرح مورد مطالعه چیده شدند و نوع مدل مورد بررسی درجه دو (کوادراتیک) در نظر گرفته شد. متغیرهای مستقل مورد استفاده شامل pH (۳–۵)، دما (۱۵–۲۵ درجه سانتی‌گراد) و زمان (۱۰–۲۰ دقیقه) و پاسخ‌های اندازه‌گیری شده شامل بتاسیانین، بتاگزانتین و بازده کل بودند. آنالیز داده‌ها و رسم نمودارها با استفاده از نسخه ۷ نرم‌افزار Design Expert صورت پذیرفت. تجزیه واریانس برای ارزیابی اثرات معنی‌دار متغیرهای فرآیند بر هر یک از پاسخ‌ها انجام شد. با انجام آنالیز رگرسیون چند متغیره، مدل‌های مختلف بر اساس R^2 پیش‌بینی شده و R^2 اصلاح شده مقایسه شد، به‌صورتی‌که مدلی که دارای بیشترین مقادیر این فاکتورها باشد دارای دقت بیشتری خواهد بود. آنالیز واریانس برای تعیین عدم برازش و معنی‌دار بودن اثرات خطی، درجه دوم و برهمکنش متغیرهای مستقل بر متغیرهای وابسته نیز صورت گرفت اگر مقدار P برای آزمون عدم برازش بزرگتر مساوی ۰/۰۵ بود به معنای کافی بودن مدل برای پیش‌بینی پاسخ مورد نظر بود. سطوح متغیرهای مورد بررسی و تیمارهای مورد استفاده در آزمایش به‌ترتیب در جدول ۱ و ۲ نشان داده شده است. پس از بهینه سازی شرایط برای بیشترین میزان بتاگزانتین و بتاسیانین و بازده (با درجه اهمیت یکسان) در محدوده آزمون برای متغیرهای مستقل با توجه به نقاط بهینه بدست آمده برای استخراج، مجددا استخراج انجام شد و فاکتورهای مورد بررسی برای فرمولاسیون بهینه پیشنهادی با مطلوبیت ۰/۹۷ طبق جدول ۴ تعیین شد. مقایسه بین پاسخ‌های آزمایشگاهی بدست آمده برای نقاط بهینه با پاسخ پیش‌بینی شده نرم‌افزار با آزمون تی استیودنت[1] ($p<0.05$) انجام شد. به‌منظور کاهش خطا کلیه آزمایش ها برای هر نقطه در ۳ تکرار انجام شد.

نتایج و بحث

پس از آنالیز داده‌ها توسط برنامه Design expert جهت تعیین بهترین مدل پیشنهادی از میان پنج مدل موجود با توجه به جدول تجزیه واریانس، مدلی که مقدار میانگین مربعات[2] آن دارای اختلاف معنی‌دار بوده و مقدار عدم برازش[3] آن معنی‌دار نشود به‌عنوان بهترین مدل انتخاب می‌شود. با توجه به این موضوع و پس از بررسی نتایج بدست آمده و مقایسه میان مدل‌های رگرسیونی نتایج حاکی از آن بود که مدل کوآدراتیک (درجه دو)[4] برای تمامی آزمون‌های اندازه‌گیری شده در این مطالعه، دارای اختلاف معنی‌دار با سایر مدل‌ها بود.

1- T student
2- Sum of square
3- Lack of fit
4- Quadratic

بازده

مقدار بازده بدست آمده در مرحله آزمایشگاهی با مقدار پیشگویی شده توسط مدل به‌طریق آماری مقایسه شد در این بررسی مقادیر مشاهده شده (Y_0) با مقادیر پیش‌بینی شده (Y) مقایسه گردید و نتایج بیانگر همبستگی بسیار خوب بین نتایج بدست آمده با روش تجربی و مقادیر پیش‌بینی شده با روش آماری بود. با توجه به اینکه کلیه پارامترها دارای اثر معنی‌داری در مدل بودند (p<۰/۰۵) بنابراین با توجه به پارامترهای معنی‌دار شده، معادله ۳ مدل پیشنهادی برای این پاسخ به صورت چند جمله‌ای درجه دوم است.

$$Yield = 254/17 + 12/09A + 6/01B + 24/38C + 0/032AB + 0/58AC + 7/70 \times 10^{-3}BC - 2/03A^2 - 0/15B^2 - 0/68C^2 \quad (۳)$$

در این معادله متغیر های (A) pH، (B) دما و (C) زمان می‌باشند.

جدول ۱- نمایش متغیرهای مستقل فرآیند و مقادیر آنها

Table 1- Levels of independent variables in different treatments

	سطح Levels		
متغیرهای مستقل Independent variables	-1	۰	+1
pH	3	4	5
دما Temperature	15	20	25
زمان Time	10	15	20

جدول ۲- تیمارهای مربوط به استخراج عصاره از چغندر قرمز

Table 2- Treatments for red beetroot extraction

تیمار Treatment	pH	دما (°C) Temperature	زمان (min) Time	تیمار Treatment	pH	دما (°C) Temperature	زمان (min) Time
1	3	15	10	15	4	20	20
2	3	15	15	16	4	25	10
3	3	15	20	17	4	25	15
4	3	20	10	18	4	25	20
5	3	20	15	19	5	15	10
6	3	20	20	20	5	15	15
7	3	25	10	21	5	15	20
8	3	25	15	22	5	20	10
9	3	25	20	23	5	20	15
10	4	15	10	24	5	20	20
11	4	15	15	25	5	25	10
12	4	15	20	26	5	25	15
13	4	20	10	27	5	25	20
14	4	20	15				

جدول ۳ نتایج آنالیز واریانس را برای ارزیابی پارامتر پاسخ بازده چغندر قرمز در مورد مدل درجه دوم با آثار متقابل نشان می‌دهد. چنانچه مشاهده می‌گردد مقدار ضریب تبیین (R^2) برابر با ۰/۹۹۶۶ بیانگر تطبیق زیاد نتایج مدل با نتایج تجربی است.R^2 متعادل شده در این مدل ۰/۹۹۴۹ می‌باشد که نشان می‌دهد تنها ۰/۵۱ درصد از متغیرهای کل به‌وسیله مدل توجیه نشده‌اند. R^2 پیش‌بینی شده در این مدل برابر ۰/۹۸۹۵ است که متناسب با R^2 متعادل شده می‌باشد. همچنین عدم برازش در این مدل ۴/۱۵ است و بیانگر آن است که عدم برازش مدل معنادار نیست (P>۰/۰۵). به‌عبارت دیگر مدل، داده‌های تجربی را برازش می‌کند. پارامترهای pH و زمان دارای اثر معنی‌داری بر پاسخ بازده چغندر هستند اما دما اثر معنی‌داری بر پاسخ بازده ندارد. مقدار P-value مربوط به آثار متقابل جمله AC کمتر از ۰/۰۵ است (<۰/۰۰۱) بنابراین تأثیر معناداری بر مدل دارد. در مورد جمله درجه دوم C^2 (درجه دوم پارامتر زمان) B^2 (درجه دوم پارامتر دما) مقدار P-value کمتر از ۰/۰۵ است و تأثیر معناداری بر مدل دارد.

جدول ۳- آنالیز واریانس پاسخ بازده، استخراج رنگدانه بتاسیانین و بتاگزانتین
Table 3- Variance analysis of yield, β- Cyanine and β-Xanthine extraction

منبع تغییرات Source of changes	بازده Yield		بتاسیانین β- Cyanine		بتاگزانتین β-Xanthine	
	Degree of Freedom درجه آزادی	Mean squares میانگین مربعات	Degree of Freedom درجه آزادی	Mean squares میانگین مربعات	Degree of Freedom درجه آزادی	Mean squares میانگین مربعات
مدل	9	2193.99****	9	1.39****	9	1.04****
A-pH	1	481.33****	1	0.21****	1	٠.29****
B-دما	1	10.87ns	1	0.000005ns	1	0.016ns
C-زمان	1	17257.10****	1	12.10****	1	7.76****
AB	1	0.3072 ns	1	0.0065 ns	1	0.0008ns
AC	1	101.91 ****	1	0.0645**	1	0.085 ns
BC	1	0.44 ns	1	0.00 ns	1	0.0192*
A^2	1	24.94*	1	0.0262 ns	1	0.00 ns
B^2	1	87.27**	1	0.1005**	1	0.0236 *
C^2	1	1781.70***	1	0.0086 ns	1	291.29****
Residual باقی‌مانده	17	3.91	17	0.0085	17	0.0041
Total مجموع	26		26		26	
Lack of fit عدم برازش	7	0.000534ns	7	0.00696ns	7	0.0005ns

****: اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۰۰۱درصد ***: اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۰۱ درصد، **: اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد، *: اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد، ns: عدم وجود اختلاف معنی‌دار

***: significant difference at the 0.1%, **: significant difference at the 1% level, *: Significant difference at the 5%. ns: no significant difference

در فرآیند استخراج از ماتریس گیاهی، با گذشت زمان همواره میزان ترکیبات استخراج شده (بازدهی کل) که شاخص کمی است، افزایش می‌یابد علت آن است که باید برای ایجاد حفره در غشای سلول‌های چغندر زمان کافی داده شود تا با ایجاد حفره در غشا استخراج راحت‌تر صورت گیرد به‌همین دلیل در این پژوهش هر چه زمان افزایش پیدا کرد استخراج بیشتری صورت گرفت همچنین افزایش دما تا ۲۰ درجه باعث افزایش استخراج رنگدانه‌ها شد و در دمای بالاتر از ۲۰ درجه کاهش استخراج مشاهده شد زیرا رنگدانه‌ها به حرارت حساس هستند و حرارت بالا باعث تخریب رنگدانه‌ها می‌شود. این در حالی است که، اگر چه میزان ترکیبات زیست‌فعال که شاخص کیفی است، در ابتدای استخراج افزایش می‌یابد اما پس از آن ممکن است به‌دلیل تخریب حرارتی کاهش ترکیبات زیست‌فعال و در نتیجه خاصیت آنتی‌اکسیدانی رخ دهد. در این پژوهش، حداکثر بازدهی در pH برابر ۵، دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و زمان ۲۰ دقیقه حاصل شده است. سیلوا و همکاران (Silva *et al.*, 2018) مشاهده کردند شرایط بهینه برای استخراج بتاسیانین‌ها و بتازانتین‌ها در دماهای ۵۲ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد، با زمان استخراج ۹۰ دقیقه، با استفاده از ۲۵ درصد اتانول در آب به‌عنوان حلال می‌باشد. تحت این شرایط، غلظت بتاسیانین (۲/۴ میلی‌گرم در گرم) و بتاگزانتین (۲/۸۰ میلی‌گرم در گرم) همچنین غلظت ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر از غلظت‌های موجود در عصاره‌گیری‌های معمولی بود.

بتاسیانین

معادله ۴ مدل پیشنهادی برای این پاسخ به صورت چند جمله‌ای درجه دوم است.

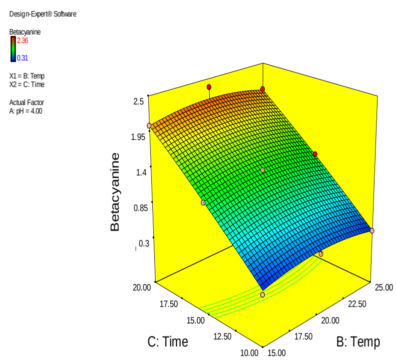
$$Betacyanine = 3/73 + 0/32A + 0/18B + 0/15C + 4/66 \times 10^{-3}AB + 0/014AC - 6/66 \times 10^{-5}BC - 0/66A^2 - 5/17 \times 10^{-3}B^2 - 1/51 \times 10^{-3}C^2 \quad (۴)$$

در این معادله متغیرهای (A) pH، (B) دما و (C) زمان می‌باشند. جدول ۳ نتایج آنالیز واریانس را برای ارزیابی پارامتر پاسخ استخراج رنگدانه بتاسیانین چغندر قرمز در مورد مدل درجه دوم با آثار متقابل نشان می‌دهد. چنانچه مشاهده می‌گردد پارامترهای pH و زمان اثر معنی‌داری بر پاسخ استخراج رنگدانه بتاسیانین از چغندر قرمز دارند اما دما اثر معنی‌داری بر پاسخ استخراج رنگدانه بتاسیانین ندارد. جمله درجه

دوم B^2 (درجه دوم پارامتر دما) دارای مقدار P-value کمتر از ۰/۰۵ است (P<۰/۰۰۳۱) و تأثیر معناداری بر مدل دارد. عدم برازش مدل با مقدار ۴/۳۹، معنادار نیست (P>۰/۰۵) و به عبارت دیگر مدل داده‌های تجربی را برازش می‌کند. مقدار ضریب تبیین (R^2) برابر با ۰/۹۸۸۶ است و بیانگر تطبیق زیاد نتایج مدل با نتایج تجربی است. R^2 متعادل شده در این مدل ۰/۹۸۲۶ می‌باشد که نشان می‌دهد تنها ۱/۷۴ درصد از متغیرهای کل به‌وسیله مدل توجیه نشده‌اند. R^2 پیش‌بینی شده در این مدل برابر ۰/۹۶۶۶ است که متناسب با R^2 متعادل شده می‌باشد.

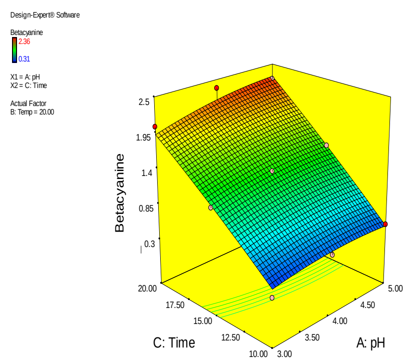
در شکل ۱ اثر متقابل دما و زمان در pH ثابت ۴ بر روی استخراج بتاسیانین مشاهده می‌شود. نمودار از دمای ۲۰ درجه به بعد حالت نزولی پیدا کرده و کاهش میزان استخراج رنگدانه بتاسیانین را نشان می‌دهد. بیشترین میزان استخراج رنگدانه بتاسیانین در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد و زمان ۲۰ دقیقه می‌باشد.

شکل ۲ اثر متقابل pH و زمان بر استخراج رنگدانه بتاسیانین را در دمای ثابت ۲۰ درجه سانتی‌گراد نشان می‌دهد. افزایش pH از ۳ به ۵ سبب افزایش استخراج رنگدانه بتاسیانین شده است و افزایش زمان از ۱۰ به ۲۰ همین نتیجه را به‌دنبال داشته و سبب افزایش استخراج رنگدانه بتاسیانین از چغندر قرمز شده است. طبق نتایج به‌دست آمده بیشترین استخراج رنگدانه در pH برابر ۵ و زمان ۲۰ دقیقه بوده است.



شکل ۱- اثر متقابل دما و زمان بر استخراج رنگدانه بتاسیانین در pH ثابت ٤

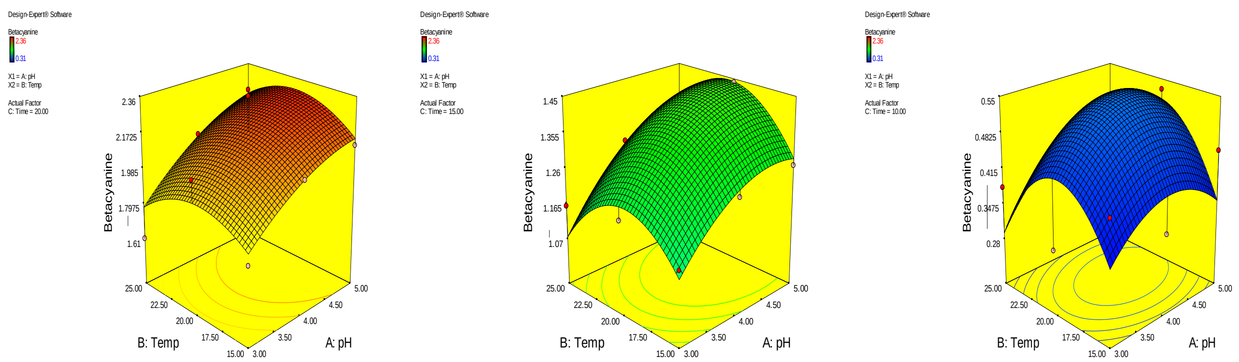
Fig. 1. The interaction of temperature and time on the extraction of β-cyanin at pH=4



شکل ۲- اثرات متقابل pH و زمان بر استخراج رنگدانه بتاسیانین در دمای ثابت۲۰ درجه سانتی‌گراد

Fig. 2. The interaction of pH and time on the extraction of β-cyanin at 20 °C

شکل (۳–الف) اثرات متقابل pH و دما بر استخراج رنگدانه بتاسیانین را در زمان ثابت ۱۰ دقیقه نشان می‌دهد. مشاهده می‌شود که افزایش pH سبب افزایش میزان استخراج رنگدانه می‌شود. در افزایش pH از ۳ به ۵ بیشترین میزان استخراج رنگدانه مشاهده گردید. با افزایش دما از ۱۵ درجه به ۲۰ درجه بیشترین استخراج رنگدانه و از ۲۰ درجه به بعد کاهش استخراج رنگدانه مشاهده گردید. شکل (۳–ب) اثرات متقابل pH و دما بر استخراج رنگدانه بتاسیانین را در زمان ثابت ۱۵ دقیقه نشان می‌دهد. مشاهده می‌شود که هر چه pH افزایش می یابد (از ۳ به ۵) میزان استخراج رنگدانه بیشتر می‌شود. در زمان ثابت ۱۵ دقیقه هر چه دما افزایش یافته است میزان استخراج رنگدانه بتاسیانین بیشتر شده است. شکل (۳–ج) اثرات متقابل pH و دما بر استخراج رنگدانه بتاسیانین را در زمان ثابت ۲۰ دقیقه نشان می‌دهد. هر چه pH افزایش می‌یابد میزان استخراج رنگدانه بیشتر می‌شود و بیشترین استخراج در pH برابر ۵ مشاهده گردید. در زمان ثابت ۲۰ دقیقه هر چه دما افزایش می‌یابد میزان استخراج رنگدانه بتاسیانین بیشتر می‌شود.



(C) (B) (A)

شکل ۳– اثرات متقابل pH و دما بر استخراج رنگدانه بتاسیانین در (الف) زمان ثابت ۱۰دقیقه (ب) زمان ثابت ۱۵ دقیقه و (ج) زمان ثابت ۲۰ دقیقه

Fig. 3. The interaction of pH and temperature on the extraction of β-cyanin at A) 10 min B) 15 min and C) 20 min

در میان فاکتورهای مختلف دما بحرانی‌ترین فاکتور است که روی تجزیه بتالائین‌ها اثر می‌گذارد. نتایج نشان می‌دهد بهترین دما برای استخراج دمای ۲۰ درجه است از این رو در دماهای پایین‌تر از ۲۵ درجه سانتی‌گراد بیشترین پایداری مشاهده می‌شود زیرا رنگدانه موجود در چغندر به حرارت حساس بوده و تجزیه می‌گردد. بنابراین می‌توان بیان کرد که افزایش میزان بتاسیانین که با افزایش دما در ابتدا شاهد آن هستیم می‌تواند به‌دلیل نرم شدن بافت گیاه، ترشح مؤثرتر ترکیبات زیست‌فعال از اجزای ماتریکس و افزایش نفوذپذیری دیواره سلولی در سلول‌ها باشد. پس افزایش دما به افزایش حلالیت رنگدانه و افزایش ضریب انتشار کمک می‌کند که به افزایش سرعت استخراج نیز منجر می‌شود (Maran *et al.*, 2013). اما کاهش میزان بتاسیانین که در دماهای بالاتر از ۲۰ درجه سانتی‌گراد مشاهده می‌شود می‌تواند به‌دلیل تجزیه رنگدانه‌ها باشد. دما به طور اغلب باعث اکسیداسیون (مانند دهیدروژنه شدن در حضور اکسیژن)، هیدرولیز پیوند آلدیمین و دکربوکسیله شدن بتالائین‌ها می‌شود که در نتیجه رنگ آن‌ها به نارنجی–زرد تغییر می‌کند.

نتایج نشان داد که بالاترین پایداری عصاره استخراج شده در pH برابر ۵ بدست می آید زیرا این رنگدانه‌ها در pH ۳ تا ۷ بیش‌ترین پایداری را نشان می‌دهند. بتاسیانین‌ها در شرایط اسیدی بیش‌ترین پایداری را دارند. در pH ۳ تا ۷ رنگ بتالائین‌ها تغییر نمی‌کند. وقتی که pH به زیر ۳ می‌رسد ساختار بتالائین‌ها از رنگ قرمز آنیونی به بنفش کاتیونی تبدیل می‌شود. شرایط قلیایی (pH بالاتر از ۷) موجب هیدرولیز پیوند آلدیمین می‌شود که نتیجه تخریب سریع بتالائین‌ها به بتالامیک اسید و سیکلودوپا–۵–O–گلوکوزید و تغییر رنگ به زرد–قهوه‌ای است. نتایج بدست آمده درمورد اثر pH و دما روی رنگدانه با نتایج فخاری زواره و همکاران (Fakhari *et al.*, 2009) مطابقت داشت. آن‌ها در مورد اثر pH بر رنگ بتانین مشاهده کردند که در pH کمتر از ۴ رنگ قرمز بتانین به بنفش تبدیل می‌شود و در pH بالاتر از ۶ رنگ محلول‌های حاوی بتانین آبی می‌شود. بیش‌ترین اثر آبی شدن در pH برابر ۸ رخ می‌دهد، تحت شرایط قلیایی قوی‌تر به سرعت به رنگ قهوه‌ای تغییر کرده و بتانین از بین می‌رود. زمان همواره میزان ترکیبات استخراج شده را افزایش می‌دهد علت آن است که باید برای ایجاد حفره در غشای سلول‌های چغندر زمان کافی داده شود تا با ایجاد

حفره در غشا استخراج راحت‌تر صورت گیرد به‌همین دلیل در این پژوهش هر چه زمان افزایش پیدا کرد استخراج بیشتری صورت گرفت. لاکی ویلکا و همکاران (Laqui-Vilca *et al.*, 2018) در ارتباط با اثر زمان روی استخراج بتالائین از میوه کینوا بیان کردند که با افزایش زمان استخراج میزان بتالائین استخراج شده نیز افزایش می‌یابد.

بتاگزانتین

معادله ۵ مدل پیشنهادی برای این پاسخ به صورت چند جمله‌ای درجه دوم است.

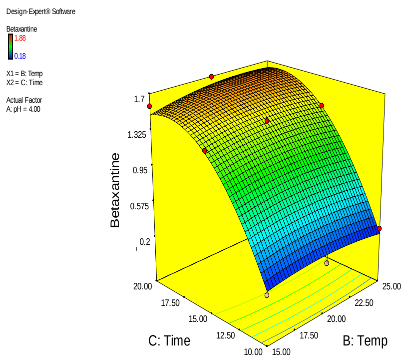
(۵)

$$Betaxantine = -4/63 - 0/13A + 0/07B + 0/56C + 1/66 \times 10^{-3}AB + 0/016AC + 1/6 \times 10^{-3}BC - 2/77 \times 10^{-3}A^2 - 2/51 \times 10^{-3}B^2 - 0/017C^2$$

در این معادله متغیرهای (A) pH، (B) دما و (C) زمان می‌باشند. جدول ۳ نتایج آنالیز واریانس را برای ارزیابی پارامتر پاسخ استخراج رنگدانه بتاگزانتین چغندر قرمز در مورد مدل درجه دوم با آثار متقابل نشان می‌دهد. همان طور که مشاهده می‌گردد پارامتر های pH و زمان اثر معنی‌داری بر پاسخ استخراج بتاگزانتین از چغندرقرمز دارند اما دما اثر معنی‌داری بر این پاسخ ندارد. مقدار P-value مربوط به آثار متقابل جمله AC کمتر از ۰/۰۵ است (p<۰/۰۰۳). بنابراین تأثیر معناداری بر مدل دارد. جمله درجه دوم C^2 (درجه دوم پارامتر زمان) دارای مقدار P-value کمتر از ۰/۰۵ است (p<۰/۰۰۱) و تأثیر معناداری بر مدل دارد. عدم برازش در این مدل با مقدار ۴/ ۲۵ معنادار نیست (P>۰/۰۵) و به‌عبارت دیگر مدل داده‌های تجربی را برازش می‌کند. مقدار ضریب تبیین (R2) برابر با ۰/۹۹۲۶ است و بیانگر تطبیق زیاد نتایج مدل با نتایج تجربی است. R^2 متعادل شده در این مدل ۰/۹۸۸۷ می‌باشد که نشان می‌دهد تنها ۱/۱۳ درصد از متغیرهای کل به‌وسیله مدل توجیه نشده‌اند. R^2 پیش‌بینی شده در این مدل برابر ۰/۹۷۹۲ است که متناسب با R^2 متعادل شده می‌باشد.

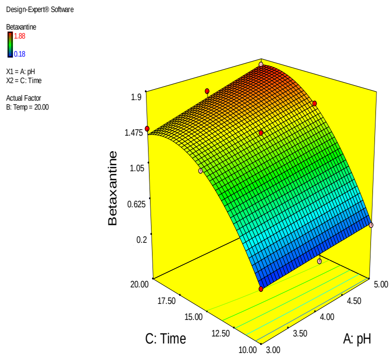
در شکل ۴ اثر متقابل دما و زمان در pH ثابت ۴ بر روی استخراج بتاگزانتین مشاهده می‌شود. افزایش دما تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد اثر معناداری بر میزان استخراج رنگدانه بتاگزانتین دارد و از دمای ۲۰ درجه به بعد، افزایش دما باعث کاهش استخراج بتاگزانتین می‌شود. همچنین افزایش زمان اثر معناداری بر میزان استخراج رنگدانه بتاگزانتین دارد. بیشترین میزان استخراج رنگدانه بتاگزانتین در زمان ۲۰ دقیقه می‌باشد. بیشترین میزان استخراج رنگدانه در دمای ۲۰ درجه می‌باشد.

شکل ۵ اثر متقابل pH و زمان بر استخراج رنگدانه بتاگزانتین را در دمای ثابت ۲۰ درجه سانتی‌گراد نشان می‌دهد. در نتایج آنالیز واریانس نیز مشاهده گردید افزایش pH اثر معنی‌داری (P<۰/۰۵) بر مدل و میزان استخراج رنگدانه بتاگزانتین دارد. افزایش pH از ۳ به ۵ سبب افزایش استخراج رنگدانه بتاگزانتین شده است و افزایش زمان از ۱۰ به ۲۰ همین نتیجه را به دنبال داشته و سبب افزایش استخراج رنگدانه بتاگزانتین از چغندر قرمز شده است. چنانچه مشاهده می‌شود افزایش pH و افزایش زمان سبب افزایش استخراج رنگدانه بتاگزانتین شده است و بیشترین استخراج این رنگدانه در pH برابر ۵ و زمان برابر۲۰ دقیقه مشاهده شد.



شکل ٤- اثر متقابل دما و زمان بر استخراج رنگدانه بتاگزانتین در pH ثابت ٤

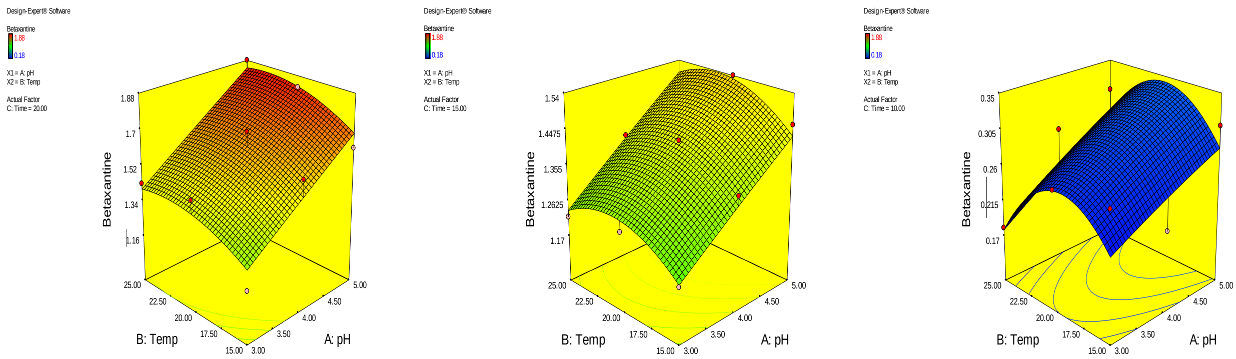
Fig. 4. The interaction of temperature and time on the extraction of β-Xanthine at pH=4



شکل ۵- اثرات متقابل pH و زمان بر استخراج رنگدانه بتاگزانتین در دمای ثابت۲۰ درجه سانتی‌گراد

Fig. 5. The interaction of pH and time on the extraction of β-Xanthine at 20 °C

شکل (۶-الف) اثرات متقابل pH و دما بر استخراج رنگدانه بتاگزانتین را در زمان ثابت ۱۰ دقیقه نشان می‌دهد. مشاهده می‌شود که افزایش pH سبب افزایش میزان استخراج رنگدانه می‌شود و بیشترین میزان استخراج رنگدانه در افزایش pH از ۳ به ۵ مشاهده گردید. با افزایش دما از ۱۵ درجه به ۲۰ درجه بیشترین استخراج رنگدانه و از ۲۰ درجه به بعد کاهش استخراج رنگدانه مشاهده گردید. شکل (۶-ب) اثرات متقابل pH و دما بر استخراج رنگدانه بتاگزانتین را در زمان ثابت ۱۵ دقیقه نشان می‌دهد. مشاهده می‌شود که هر چه pH و دما افزایش می‌یابد میزان استخراج رنگدانه بیشتر می‌شود. شکل (۶-ج) اثرات متقابل pH و دما بر استخراج رنگدانه بتاگزانتین را در زمان ثابت ۲۰ دقیقه نشان می‌دهد. هر چه pH افزایش می‌یابد میزان استخراج رنگدانه بیشتر می‌شود و بیشترین استخراج در pH برابر ۵ مشاهده گردید. در زمان ثابت ۲۰ دقیقه هر چه دما افزایش می‌یابد میزان استخراج رنگدانه بتاگزانتین بیشتر می‌شود.



(الف) (ب) (ج)

(A) (B) (C)

شکل ٦- اثرات متقابل pH و دما بر استخراج رنگدانه بتاگزانتین در (الف) زمان ثابت ۱۰دقیقه (ب) زمان ثابت ۱۵ دقیقه و (ج) زمان ثابت ۲۰ دقیقه

Fig. 6. The interaction of pH and temperature on the extraction of β-Xanthine at A) 10 min B) 15 min and C) 20 min

در بررسی اثر متغییرهای فرآیند روی میزان استخراج بتاگزانتین دما تأثیر معنی‌داری روی استخراج بتاگزانتین ندارد، با این حال با افزایش دما محتوای بتاگزانتین افزایش می‌یابد زیرا مقدار رنگدانه استخراج شده به‌وسیله فراصوت با دما تغییر پیدا می‌کند. این به‌دلیل اثر حفره‌سازی روی تورم و بزرگ شدن خلل و فرج در مواد است که کارایی استخراج را افزایش می‌دهد. افزایش دما، کشش سطحی و ویسکوزیته حلال را

کاهش می‌دهد. بنابراین نه تنها روی حفره‌سازی فراصوت بلکه همچنین روی سرعت انتقال جرم نیز اثر می‌گذارد. نتایج بدست آمده از پژوهش نشان داد که زمان استخراج بسیار مهم است به‌دلیل اینکه اگر بیش از حد کوتاه یا بیش از حد طولانی باشد احتمالا باعث عدم استخراج شایسته ترکیبات یا تجزیه آن‌ها می‌گردد و بهترین دما برای استخراج دمای ۲۰ درجه نشان داده شده است. همچنین افزایش pH باعث افزایش رنگدانه بتاگزانتین می‌شود زیرا بتاگزانتین‌ها در شرایط خنثی بیشترین بازدهی را دارند.

معتبرسازی مدل

برای تأیید صحت شرایط بهینه شده، مقایسه نتایج آزمایشگاهی و مقادیر پیش‌بینی شده پاسخ‌های مورد بررسی بر اساس نقطه بهینه پیشنهادی توسط الگوریتم بهینه‌سازی روش سطح پاسخ از طریق آزمون تی استیودنت؛ بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ بود. جدول ۴، مقادیر میانگین بازده، بتاسیانین و بتاگزانتین آزمایشگاهی و پیش‌بینی شده بدست آمده در نقاط بهینه را نشان می‌دهد.

جدول ٤- مقادیر بتاگزانتین، بتاسیانین و بازده پیش‌بینی شده و آزمایشگاهی به‌دست آمده در نقطه بهینه

Table 4- Experimental and predicted values of yield, β- Cyanine and β-Xanthine in optimum point

سطوح بهینه پارامترهای فرآیند Parameter levels for optimum point			مقادیر آزمایشگاهی بازده (وزن ریشه چغندر/ وزن عصاره) Experimental yield (%)	مقادیر پیش‌بینی شده بازده (وزن ریشه چغندر/ وزن عصاره) Predicted yield (%)	مقادیر آزمایشگاهی Experimented β- Cyanine (µg/g)	مقادیر پیش بینی شده Predicted β- Cyanine (µg/g)	مقادیر آزمایشگاهی بتاگزانتین Experimented β-Xanthine (µg/g)	مقادیر پیش‌بینی شده بتاگزانتین Predicted β-Xanthine (µg/g)
زمان (min) Time	دما (°C) Temperature	pH						
20	21	5	89.20±3.26[a]	91.26 [a]	2.112±0.21[a]	2.298[a]	1.72±0.14[a]	1.837[a]

حروف غیر مشترک در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون T-Test در سطح احتمال ۵ درصد است.

Different letters in each row indicate significant difference at 5% level of the T test.

نتیجه‌گیری

در این تحقیق نتایج به‌طور کلی نشان داد هر چه میزان pH و زمان فرآیند استخراج افزایش یابد، استخراج بتاسیانین و بتاگزانتین نیز افزایش می‌یابد همچنین برای استخراج رنگدانه‌های بتاسانین بهتر است از دماهای کمتر از ۲۵ درجه سانتی‌گراد استفاده شود زیرا رنگدانه‌های بتاسیانین به حرارت بالا حساس هستند و در دماهای بالاتر از ۲۵ درجه سانتی‌گراد تخریب می‌شوند. در این پژوهش در pH برابر ۵، دمای ۲۱ درجه سانتی‌گراد و زمان ۲۰ دقیقه حداکثر بازدهی مشاهده شد. مقایسه مقادیر بدست آمده آزمایشگاهی و مقادیر پیش‌بینی شده پاسخ مورد بررسی در نقطه بهینه پیشنهادی الگوریتم بهینه‌سازی از طریق آزمون تی استیودنت، بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ بود. با توجه به نتایج حاصل شده از این پژوهش می‌توان استخراج به کمک دستگاه فراصوت را روشی کارآمد و سریع دانست. استخراج بتالائین از چغندر قرمز به کمک دستگاه فراصوت به‌دلیل کاهش زمان، دما، انرژی مصرفی، کاهش مصرف حلال و به طبع آن کاهش هزینه بازیابی روشی اقتصادی است که می‌تواند جایگزین روش‌های متداول استخراج در صنعت گردد.

میزان مشارکت

مهشاد لوارستاق و یاسمن اسمعیلی: روش‌شناسی و مدیریت داده‌ها، تنظیم پیش‌نویس اصلی، **نفیسه زمین‌دار:** مدیریت پروژه، نظارت، نوشتن و بررسی و ویرایش مقاله.

منابع تأمین مالی

این تحقیق هیچ کمک مالی خاصی در بخش‌های عمومی، تجاری یا غیر انتفاعی دریافت نکرد.

References

1. Aberoumand, A. (2011). A review article on edible pigments properties and sources as natural biocolorants in foodstuff and food industry. *World Journal Dairy Food Science*, *6*(1), 71-78.
2. Bas, D., & Boyac, I. (2007). Modeling and optimization II: Comparison of estimation capabilities of response surface methodology with artificial neural networks in a biochemical reaction. *Journal of Food Engineering*, *78*, 846-854. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.11.025
3. Cardoso-Ugarte, G., Sosa-Morales, M., Ballard, T., Liceaga, A., & San Martín-González, M. (2014). Microwave-assisted extraction of betalains from red beet (*Beta vulgaris*). *LWT-Food Science and Technology*, *59*(1), 276-282. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.05.025

4. Changizi-Ashtiyani S, Ramezani, M., Poorcheraghi, H., Afzali, S.M., Pirouzi, P., & Atashi, S. (2019). The effectiveness of *Rosa canina* plant in treatment of some diseases: A brief review. *Journal Arak University Medicenal Science*; *22*(5), 6-17. https://doi.org/10.32598/JAMS.22.5.6
5. De Sotillo, D.R., Hadley, M., & Holm, E. (1994). Phenolics in aqueous potato peel extract: extraction, identification and degradation. *Journal of Food Science*, *59*(3), 649-651. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1994.tb05584.x
6. Delgado-Vargas, F., Jiménez, A., & Paredes-López, O. (2000). Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains—characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical reviews in Food Science and Nutrition*, *40*(3), 173-289. https://doi.org/10.1080/10408690091189257
7. Downham, A., & Collins, P. (2000). Colouring our foods in the last and next millennium. *International Journal of Food Science & Technology*, *35*(1), 5-22. https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2000.00373.x
8. Escribano, J., Pedreño, M.A., García-Carmona, F., & Muñoz, R. (1998). Characterization of the antiradical activity of betalains from *Beta vulgaris* L. roots. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, *9*(3), 124-127.
9. Esmaeili, Y., Zamindar, N., Paidari, S., Ibrahim, S.A., & Mohammadi Nafchi, A. (2021). The synergistic effects of aloe vera gel and modified atmosphere packaging on the quality of strawberry fruit. *Journal of Food Processing and Preservation*, *45*(12), e16003. https://doi.org/10.1111/jfpp.16003
10. Fakhari, A.R., & Baghipour, S. (2009). Extraction of a food colorant from red beet and evaluation of its stability. *Journal of Color Science and Technology*, *3*(4), 243-250.
11. Hendry, G.A.F., & Houghton, J. (1996). *Natural food colorants*: Springer Science & Business Media.
12. Kooshesh, S., & Golmakani, M.T. (2015). Optimization of microwave-assisted extraction of betalains from red beet (*Beta vulgaris*) and evaluation the antioxidant activity of obtained. *Electronic Journal of Food Processing and Preservation*, *7*(2), 39-60.
13. Laqui-Vilca, C., Aguilar-Tuesta, S., Mamani-Navarro, W., Montaño-Bustamante, J., & Condezo-Hoyos, L. (2018). Ultrasound-assisted optimal extraction and thermal stability of betalains from colored quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) hulls. *Industrial Crops and Products*, *111*, 606-614. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.11.034
14. Lee, W., Yusof, S., Hamid, N., & Baharin, B. (2006). Optimizing conditions for hot water extraction of banana juice using response surface methodology (RSM). *Journal of Food Engineering*, *75*(4), 473-479. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.04.062
15. Maran, J.P., Manikandan, S., & Mekala, V. (2013). Modeling and optimization of betalain extraction from *Opuntia ficus-indica* using Box–Behnken design with desirability function. *Industrial Crops and Products*, *49*, 304-311. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.05.012
16. Pavlov, A., Georgiev, V., & Ilieva, M. (2005). Betalain biosynthesis by red beet (*Beta vulgaris* L.) hairy root culture. *Process Biochemistry*, *40*(5), 1531-1533. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.01.001
17. Ranjbar Nedamani, A. (2022). Stability enhancement of natural food colorants- A review. *Research and Innovation in Food Science and Technology*, *10*(4), 369-388. https://doi.org/10.22101/JRIFST.2022.277772.1235
18. Righi Pessoa da Silva, H., da Silva, C., & Bolanho, B.C. (2018). Ultrasonic-assisted extraction of betalains from red beet (*Beta vulgaris* L.). *Journal of Food Process Engineering*, *41*(6), p.e12833. https://doi.org/10.1111/jfpe.12833
19. Stintzing, F.C., & Carle, R. (2004). Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends in Food Science & Technology*, *15*(1), 19-38. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.07.004
20. Zohuri, A., Tabatabai Yazdi, F., Mortazavi, S.A., & Shahidi, F. (2016). Comparison of efficiency and extraction of color and natural compounds from red beet by maceration and ultrasonic extraction methods. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, *13*(52), 47-54.